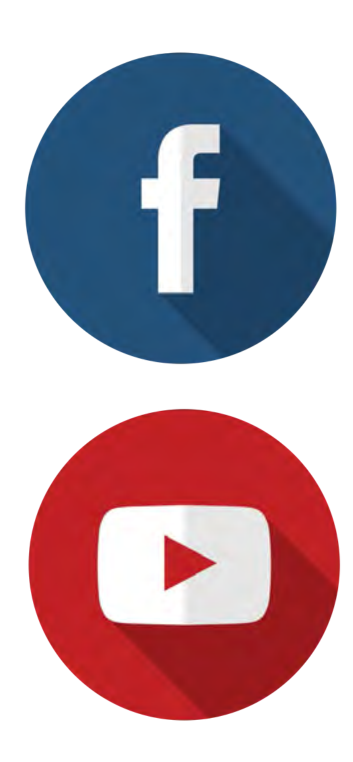
In the name of Allah, the Most Gracious, the Most Merciful







Implication du système HLA en Médecine

Pr MEDDOUR
Service d'Immunologie - Hôpital Central de l'Armée



- *Complexe:* > 200 gènes codant pour des produits très divers

- *Majeur:* Les produits sont à l'origine de différences allogéniques importantes entre individus de la même espèce.

- *Histocompatibilité:* à l'origine de phénomènes de rejet de greffe entre sujets incompatibles

I- INTRODUCTION

Toute tentative de greffe entre individus génétiquement différents (hors jumeaux monozygotes) entraîne une **réaction de rejet**.

Le rejet du greffon est lié à la réponse immunitaire du receveur à des antigènes exprimés à la surface des membranes des cellules du donneur qui sont différents de ceux exprimés par celles du receveur.

Ces antigènes sont dénommés **: Antigènes de transplantation ou d'histocompatibilité.**

Codés par une série de gènes étroitement liés répartis sur différents loci sur une région chromosomique (6p21.31) définissant:

CMH : *Complexe Majeur d'Histocompatibilité*

HLA: *Human Leucocyte Antigen*

Molécules HLA ou Antigènes HLA:

⇒ Des glycoprotéines membranaires.

⇒ La cible des anticorps et des cellules T cytotoxiques au cours du rejet.

⇒ Polymorphes : ce polymorphisme régit les lois de la transplantation.

II- ORGANISATION GENETIQUE

GENES CMH : Série de gènes situés sur le bras court du chromosome 6

(partie distale bande: 6p 21..31)

CMH CLASSE I

- HLA A,
- HLA B,
- HLA C.
- HLA E,
- HLA F,
- HLA G.

CMH CLASSE II

- HLA DR
- HLA DQ
- HLA DP

CMH CLASSE III

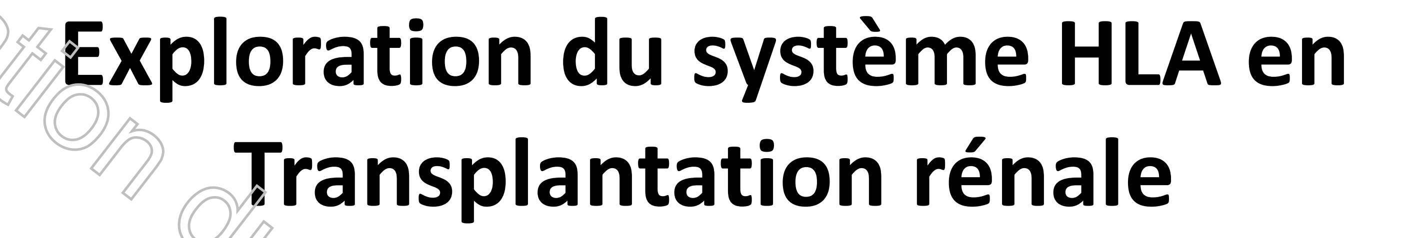
- C2,
- Bf,
- C4,
- TNFα ,
- TNFβ…



Caractéristiques du système HLA

- Polymorphisme extrême
- Codominance
- La liaison étroite
- Le déséquilibre de liaison





Typage des spécificités HLA sérologiques

Génotypage des spécificités HLA allélique

Recherche des anticorps anti-HLA



Techniques de typage HLA

Sérologique → spécificités
Microlymphocytotoxicité (LCT)

Biologie moléculaire : ADN → allèles

- **PCR-SSO (PCR-sequence specific probes)**
- **PCR-SSP (PCR-sequence specific primers)**
- **PCR- SBT (Sequence Based Typing)**

TYPAGE HLA PAR SEROLOGIE

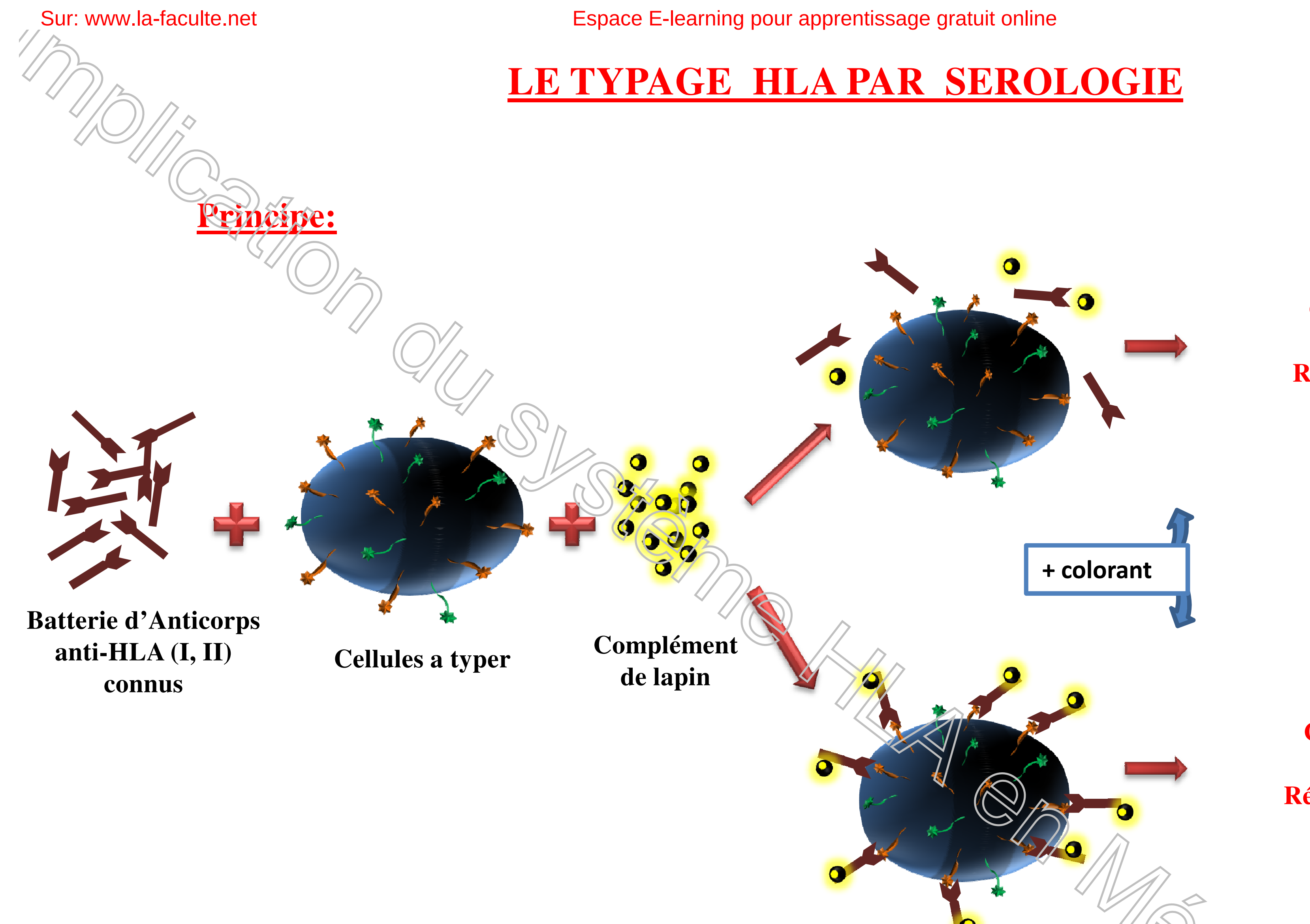
- **La technique de référence : Microlymphocytotoxicité = LCT (Terasaki et Mac Clelland 1964).**
- **Détecte des Ac IgG et IgM.**
- **trouve son application :**

Typage HLA de classe I Recherche d'anticorps anti-HLA de classe I Cross Match anti-classe I	Typage HLA de classe II Recherche d'anticorps anti-HLA de classe II Cross Match anti-classe II
Cellules mononucléaires: CMN Lymphocytes T	Lymphocytes B

- **Typage HLA: Ag inconnu, Cross Match: Ac inconnus…**
- **Les plaquettes, peuvent être utilisées pour l'adsorption des anticorps anti-HLA de classe I.**

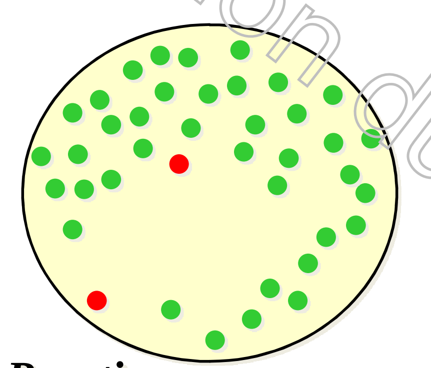
LE TYPAGE HLA PAR SEROLOGIE

Principe:



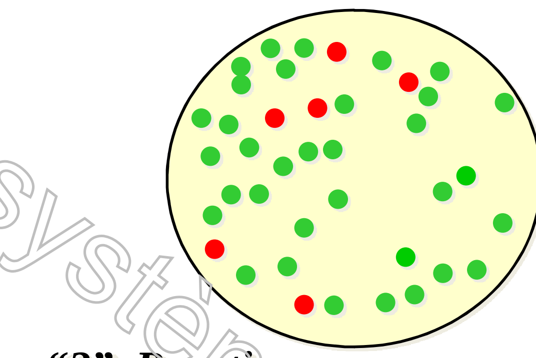
TYPAGE HLA PAR SEROLOGIE

Résultat : Score selon l'échelle standard ASHI



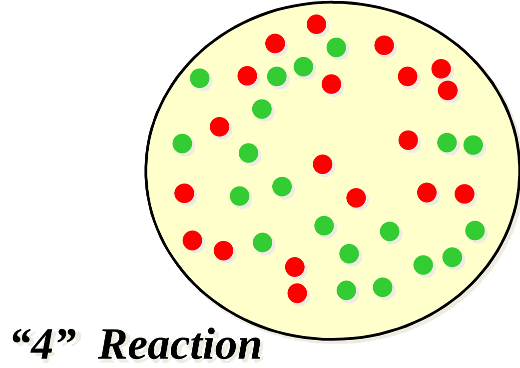
"1" Reaction

0–10% Cells



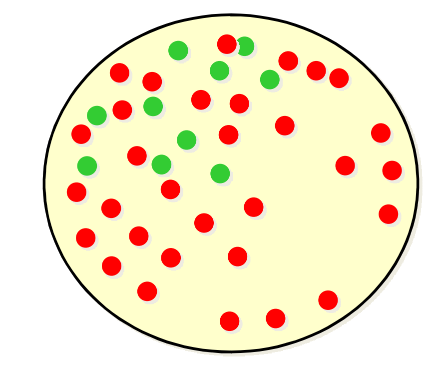
"2" Reaction

11–20% Dead Cells



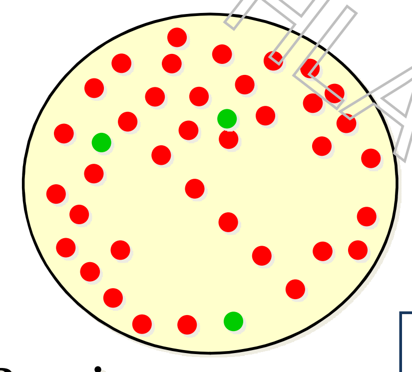
"4" Reaction

21–50% Dead Cells



"6" Reaction

51–80% Dead Cells



"8" Reaction

81–100% Dead Cells

L'interprétation du phénotype HLA se fait grâce aux plans de batteries indiquant la localisation et la spécificité des sérums.

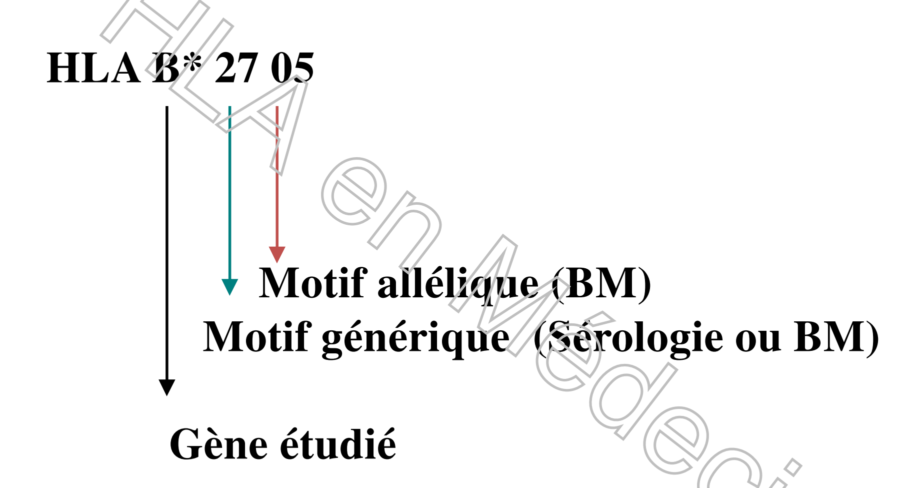
Le génotype est déterminé à travers l'étude de la famille.

Typage HLA par biologie moléculaire

Deux niveaux de résolution:

Typage HLA : niveau générique ou basse résolution (2 digits)
Donne l'équivalent du résultat obtenu par sérologie.

Typage HLA de niveau allélique ou de haute résolution (4 digits)
détermine les sous variants alléliques

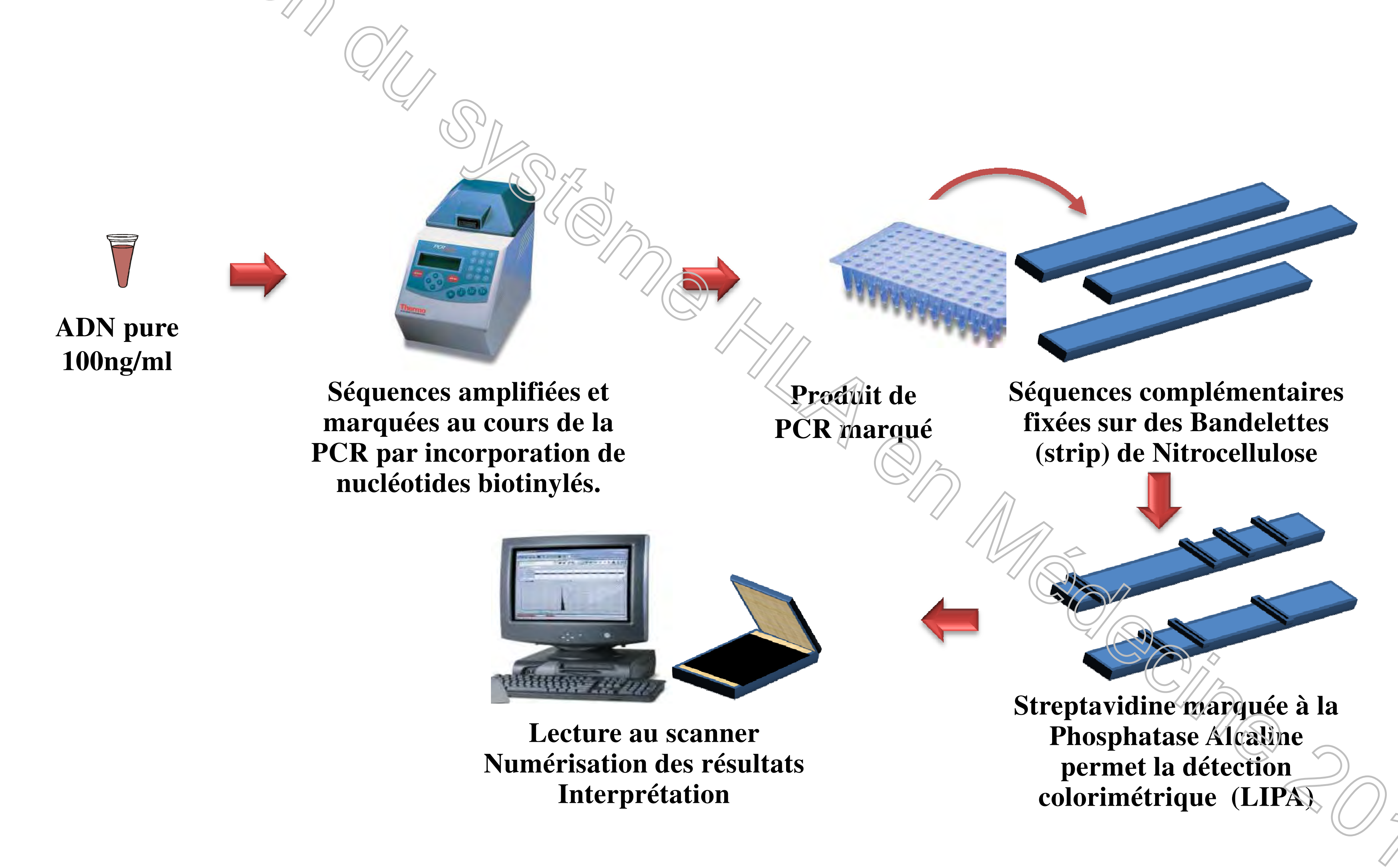


Le typage de niveau générique des gènes HLA –A, B et DRB1 : Suffisant en transplantations d'organes

Technique PCR - SSO reverse

Basée sur l'hybridation de sondes spécifiques fixées sur un support solide avec le produit d'amplification marqué : (Dynal®, LIPA)

Avantages : systéme automatisable rapide



Les Anticorps anti-donneurs

Ac non HLA: Ac anti-cellules endothéliales et monocytes du donneur

- Liés à un rejet hyperaigu chez un individu avec crossmatch négatif (Paul et col. 1979).
- Liés un rejet aigu chez un patient ayant un rein apparenté HLA compatible (Brasile 1996).

Ac anti HLA:

-Les plus fréquents

-Dirigés contre les molécules I et II

- apparaissent après sensibilisation du R aux Ag HLA suite:

Transfusions

Immunogénicité attribuée aux leucocytes
Date apparition des AC: J15- J21

Grossesse

Ac anti molécule(s) HLA d'origine paternelle
Disparaissent après l'accouchement
Réapparaissent si grossesse ou transfusion de sang même déleucocyté
Date apparition : 3mois

Transplantations antérieures

Si incompatibilité pour les antigènes HLA portés par le(s) premier (s) greffon
Ac détectés après transplantectomie

Conséquence de l'alloimmunisation anti HLA

- Ac anti HLA non spécifiques des Ag du greffon sont des marqueurs d'alloimmunisation

- Les Ac anti HLA spécifiques des Ag HLA de classe I du greffon sont responsables des lésions observées au cours du RHA (Kiss Meyer Nelson 1966)

- survient dans les quelques minutes ou heures qui suivent le rétablissement de la continuité vasculaire aboutissant à la perte du transplant.

-Seule mesure thérapeutique est la prévention par :

-La recherche et identification des Ac anti-HLA particulièrement après un épisodes immunisant

-Le test de CXM Pré TR

Techniques de recherche et d'identification des Ac HLA

Dans sérum des patients principalement par:

LCT : screening sur un panel de cellules typées en HLA

- **CMN congelées ou cellules T pour les anticorps anti HLA de classe I**
- **cellules B pour les Acs anti HLA de classe II.**

Techniques sensibilisées:

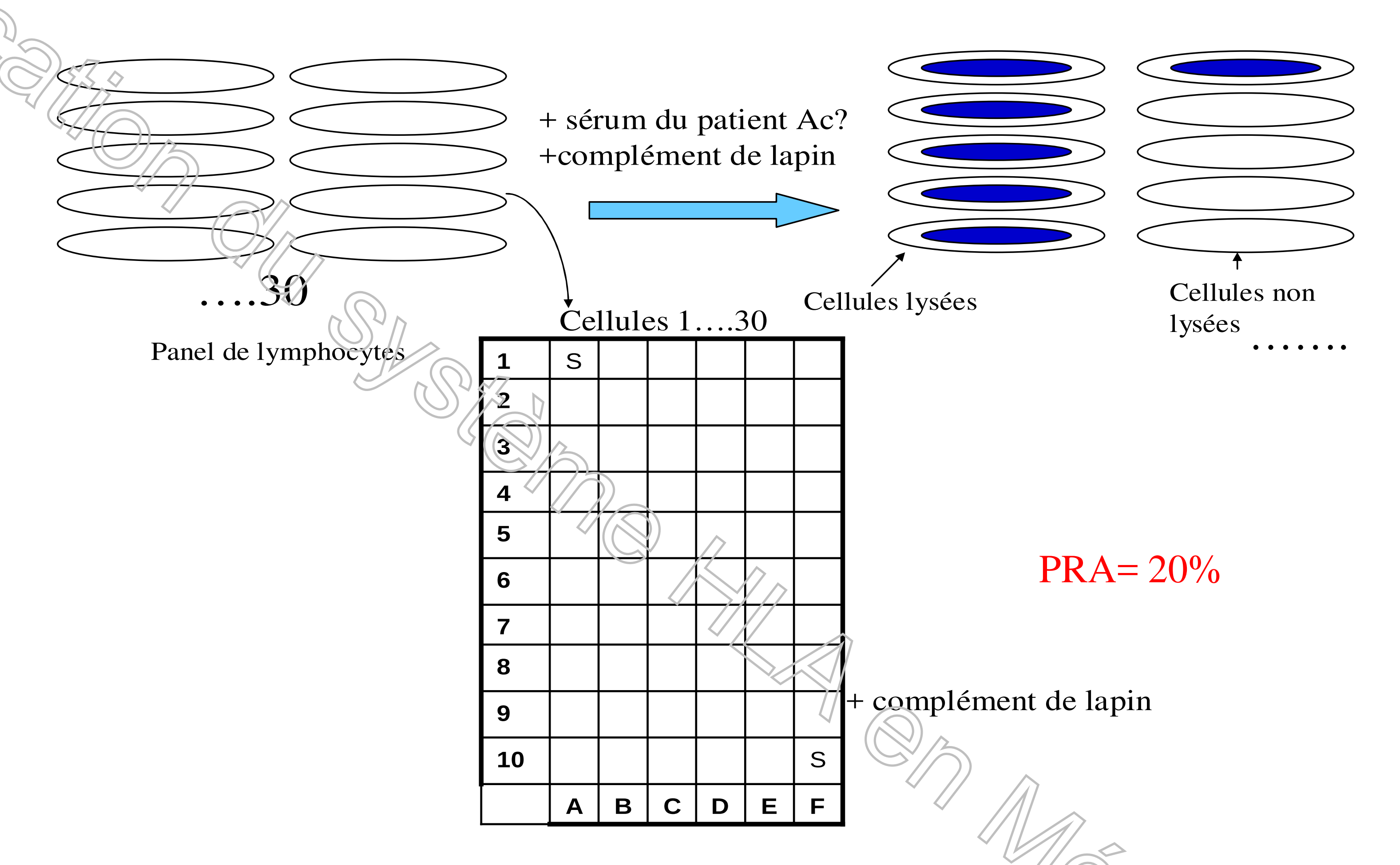
utilisation d' Ag HLA de classe I ou de classe II purifiés fixés sur un support.

ELISA: support plastique en microplaque

Cytométrie de flux (Flow PRA ; Luminex): support =billes .



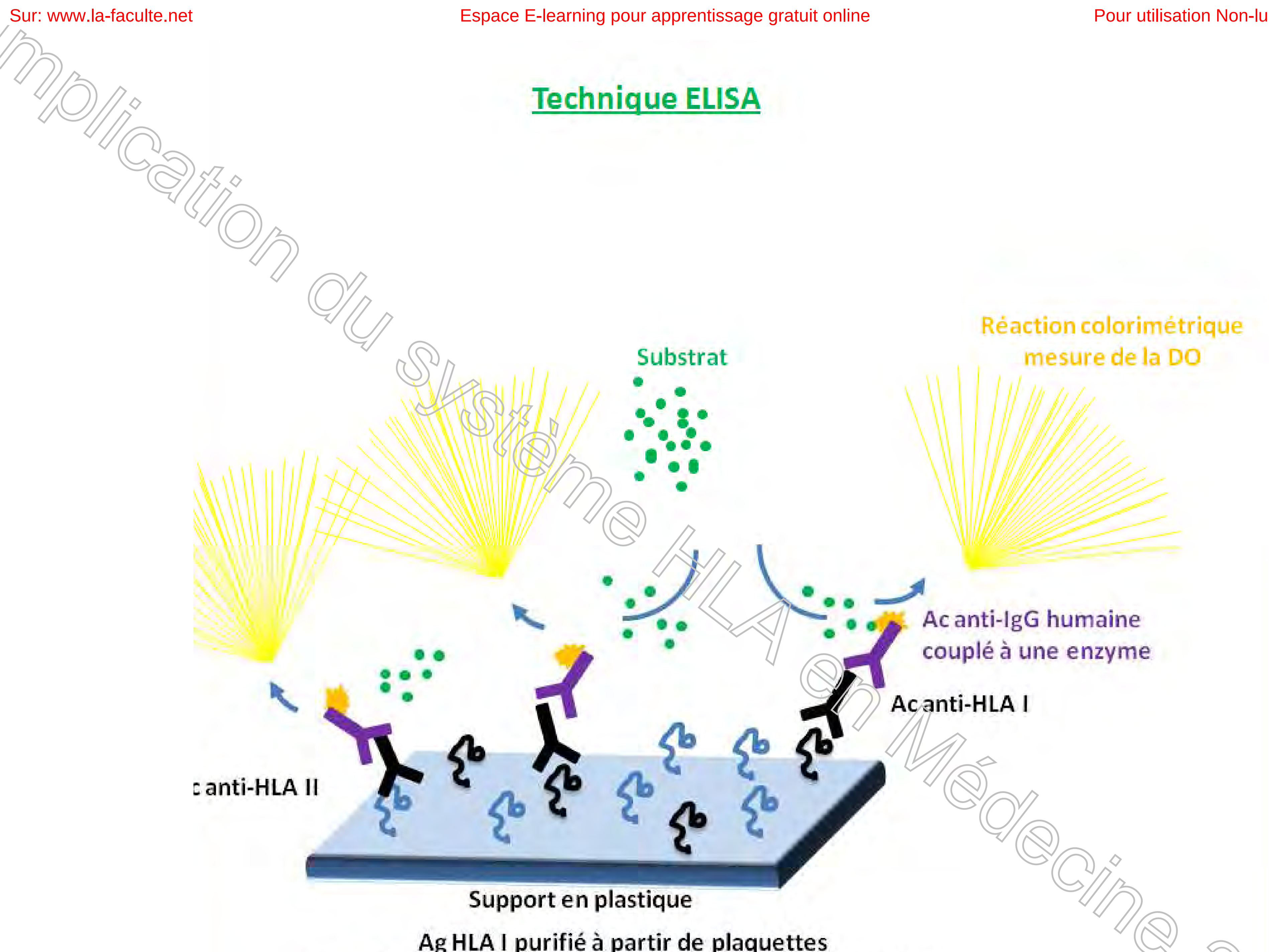
Technique LCT



Suivi de l'immunisation est effectué en calculant le pourcentage de cellules lysées : PRA (Panel Reactiv Antibodies)

Panel: représentaif des Ag HLA de la population locale

Technique ELISA





HLA et maladies





Fond génétique et prédisposition aux maladies

Maladies monogéniques :

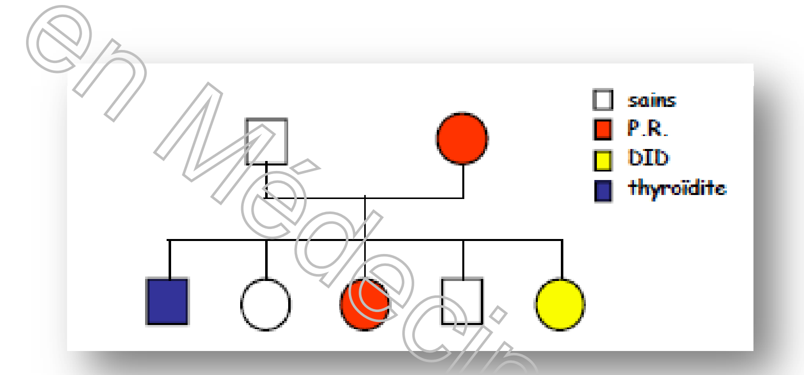
- mutation très rare (absente) dans la population normale
- mutation présente chez les malades
- transmission Mendélienne (AR, AD), de-novo.

Ex: déficit enzymatique, trisomie, myopathie, …

Maladies multifactorielles :

- facteurs génétiques de susceptibilité non rares dans la population
- facteurs génétiques significativement augmentés chez les malades
- transmission aléatoire

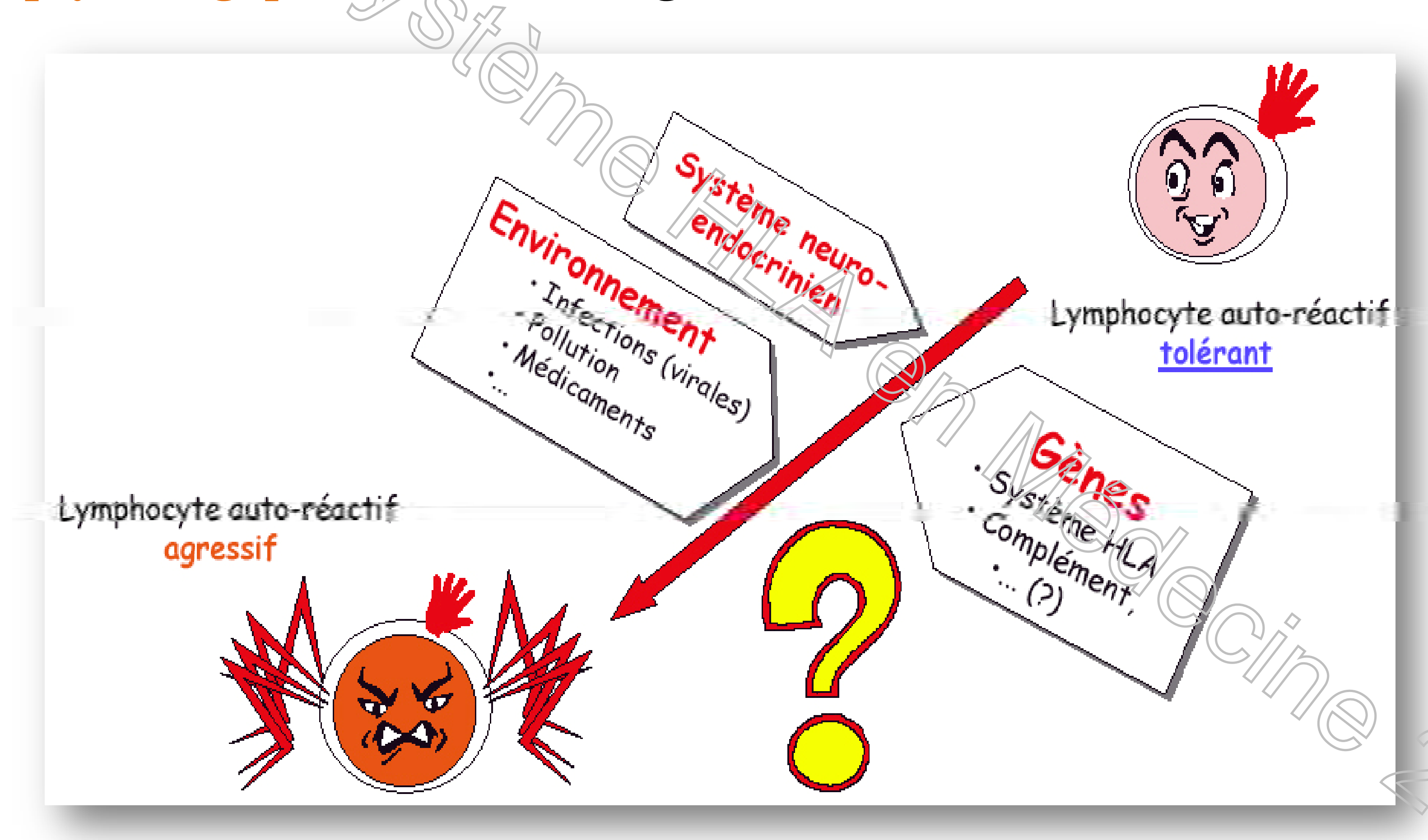
Ex: totalité des maladies auto-immunes



Atteinte non systématique
Possibilité de plusieurs types de MAI dans une même famille.

Facteurs favorisants les maladies autoimmunes

- **Facteurs génétiques**
- **Facteurs immunologiques (tolérance,…)**
- **Facteurs extrinsèques (environnement): infections, UV, pollution, médicaments,…**
- **Facteurs hormonaux (sexe ratio,…)**
- **Facteurs psychologiques (stress, deuil, grossesse,…)**



Moyens d'évaluation de la susceptibilité génétique aux MAI

ETUDES D'ASSOCIATION (cas / témoins)

Différence de distribution du marqueur génétique entre le groupe de patients non apparentés et un groupe témoin de même origine

Test d'association = information populationnelle

ANALYSE DE SEGREGATION

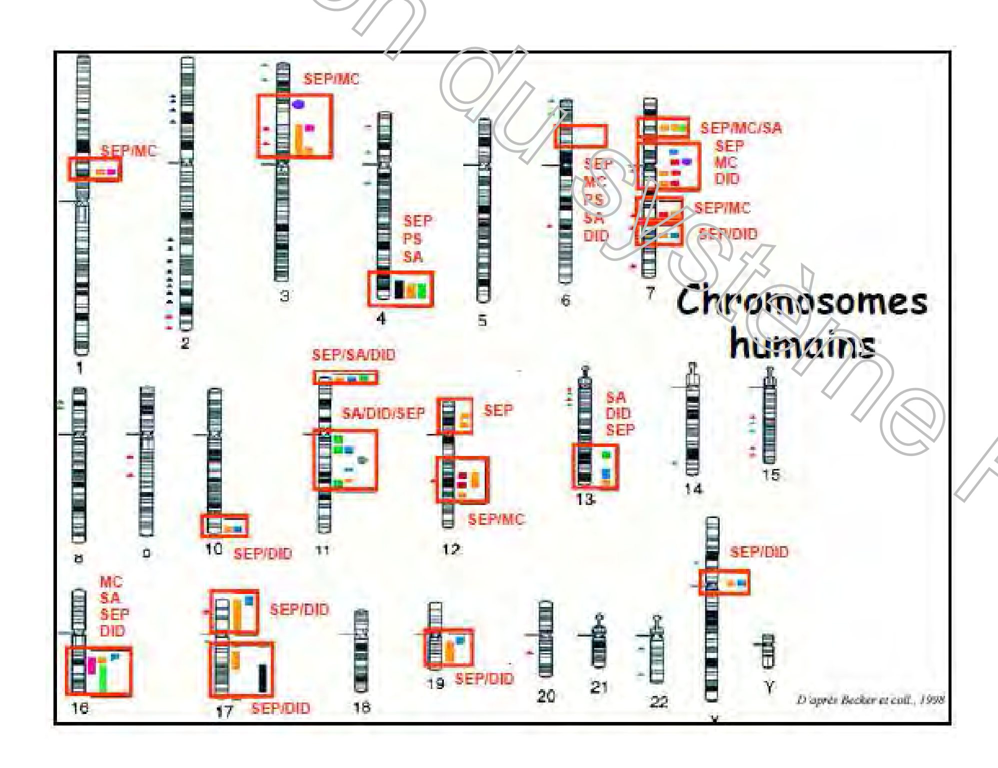
Transmission génétique non indépendante du marqueur et de la maladie dans la famille des patients

Analyse de ségrégation = information familiale



Stratégies d'analyse génétique des maladies complexes

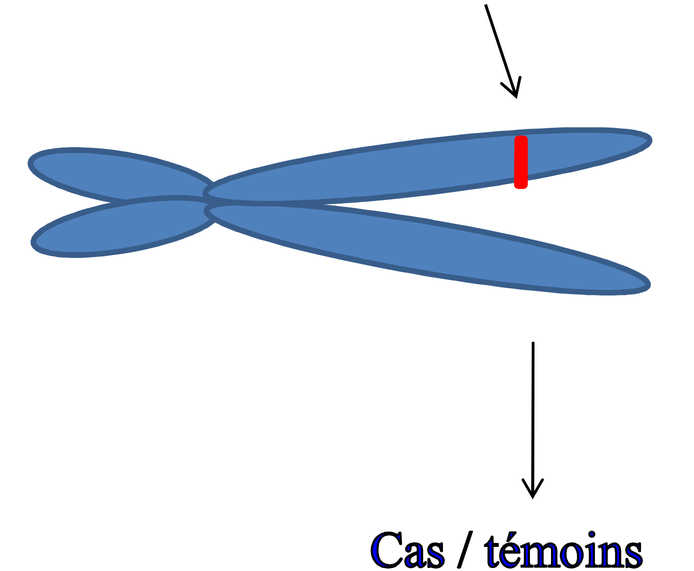
Génome entier



Ségrégation dans la famille

Marqueur d'intérêt

Région chromosomique



Cas / témoins

(Gène candidat)

Sélection du gène d'intérêt ?

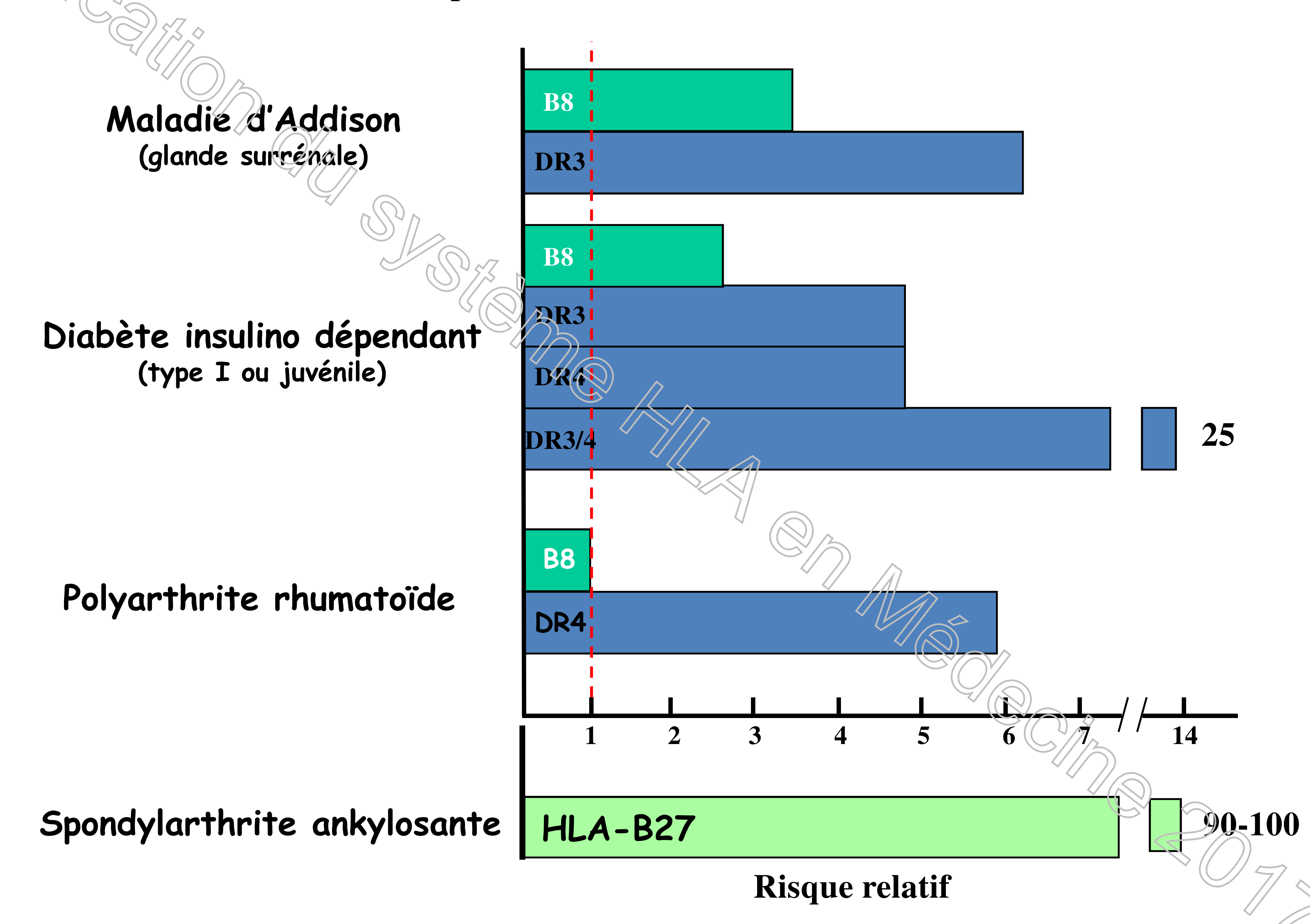


- Rôle du polymorphisme :
  - Les molécules HLA sélectionnent les peptides ayant une forte affinité avec leur sillon antigénique.
  - Plus un peptide antigénique aura une forte affinité avec un type HLA plus il sera présenté en grand nombre aux lymphocytes T, donc plus la réponse immunitaire contre lui sera forte.
  - Inversement moins un peptide aura d'affinité avec un type HLA, moins la réponse immunitaire sera efficace.
  - Certains types HLA ne peuvent pas induire de réponse immunitaire efficace contre certains antigènes, donc certains pathogènes.
  - Dans une population donnée, plus la variabilité HLA sera grande plus cette population aura de chance qu'une partie d'entre elle puisse se défendre efficacement contre un nouveau pathogène.

HLA	Maladie	Effet
Classe I		
B8	Tuberculose pulmonaire	**Susceptibilité**
B35	HIV	**Susceptibilité**
B53	Malaria	**Résistance**
B57	HIV	**Résistance**
Classe II		
DRB1*1302	Hépatite B	**Résistance**
DRB1*1352	Malaria	**Résistance**
DRB1*1101	Hépatite C	**Résistance**
DRB1*04	Typhoïde	**Résistance**
DR2	Tuberculose pulmonaire	**Susceptibilité**
DR2	Lèpre	**Susceptibilité**
DR7	Hépatite B	**Susceptibilité**

Le système HLA en pathologie

Exemples d'association HLA et maladie



Le système HLA en pathologie

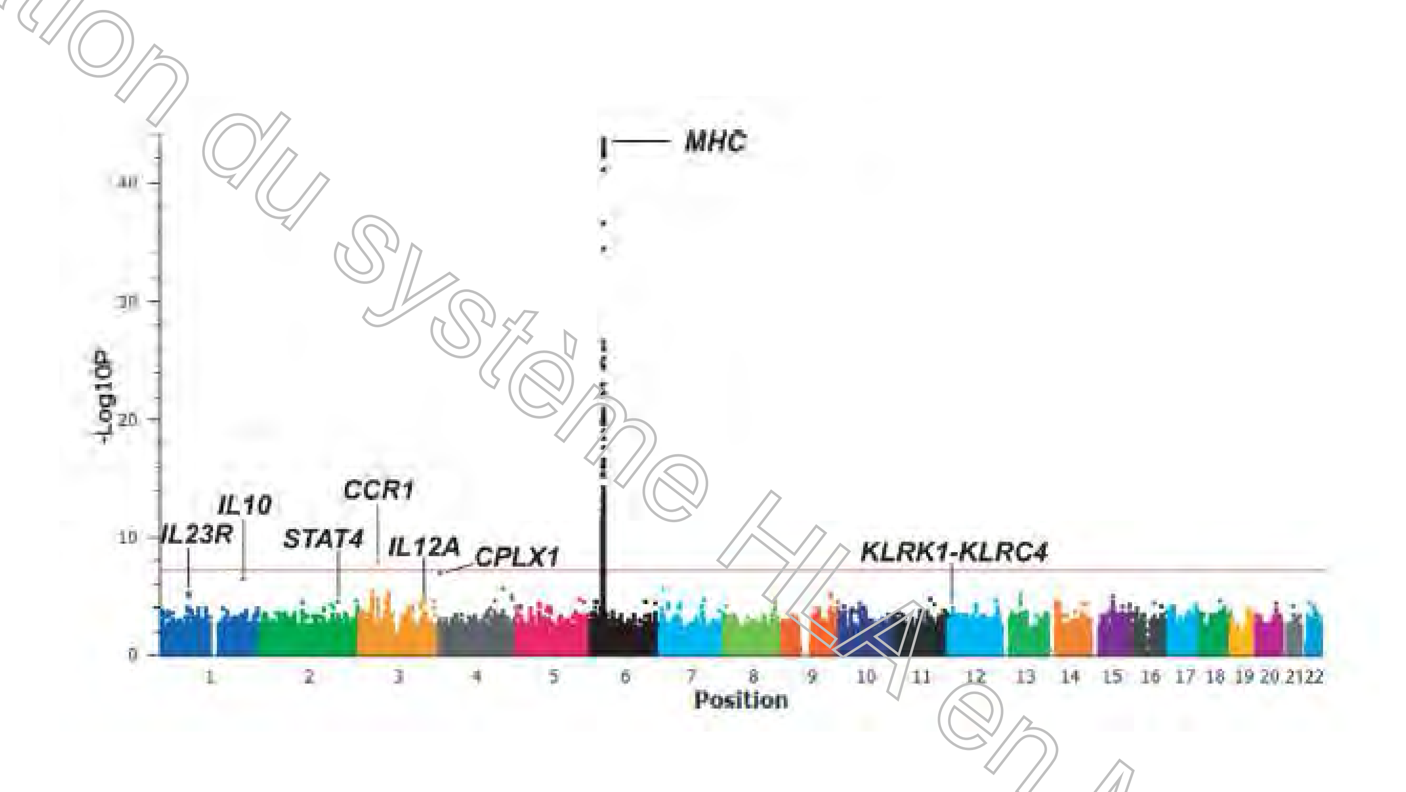
Spondylarthropathies et HLA B27

	% chez les malades	% chez les témoins	Risque relatif
Spondylarthrite ankylosante	90	6	141
Arthrites réactionnelles	71	6	38,4
Syndrome de Fiessinger-Leroy-Re	79	6	58,9
Arthrites des entérocolopathies	77	6	52,4
Rhumatisme psoriasique axial	50	6	15,7



Le système HLA en pathologie

Maladie de Behçet



HLA B*51
HLA B*52

(HLA B5)

Le système HLA en pathologie

Autres association importantes

HLA B*29 : Birdshot

HLA B*5701 et B*5702 et allergie à l'Abbacavir

Sclérose en plaques	DR2	70	22	8,3
Narcolepsie	DR2	100	22	351
Maladie cœliaque	DR3	63	16	8,1
	DR7	55	28	3,1
Myasthénie de type II	DR3	55	16	6,4
	DR5	60	30	3,5
Maladie de Basedow	DR3	48	16	4,9
Thyroïdite atrophique de Hashimoto	DR3	50	16	5,2
Lupus érthémateux disséminé	DR3	38	16	2,5
Maladie de Gougerot-Sjögren isolée	DR3	65	16	9,8
Polymyosite de l'adulte	DR3	50	16	5,2
Dermatomyosite juvénile	DR3	40	16	3,5
Diabète sucré juvénile	DR3	56	16	3,3
	DR4	75	20	6,4
Pemphigus vulgaire (juifs)	DR4	90	38	14,7
Polyarthrite rhumatoïde	DR4	60	20	6
	DR1	38	20	2,5
Maladie de Horton	DR4	45	20	3,3
Thyroïdite hypertrophique de Hashimoto	DR5	60	30	3,5
Arthrite chronique juvénile	DR5	50	30	2,3
	DR8	28	5	7,4

Conclusion

- **Le système HLA est un élément central dans l'activation du système immunitaire.**

- **Rôle central dans la présentation des Antigènes**

- **Diversité à la base de l'immunité anti-infectieuse MAIS source d'auto-immunisation.**

- **Association allèles HLA avec certaines maladies auto-immunes : intérêt diagnostique**

- **Association de certains allèles HLA avec certains phénotypes : intérêt pronostique**

- **Nécessité d'une prescription réfléchis : Tests génétique oblige**